

PAT-NO: JP408234110A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 08234110 A

TITLE: VERTICAL ILLUMINATING MICROSCOPE

PUBN-DATE: September 13, 1996

INVENTOR-INFORMATION:

NAME
OTAKI, TATSURO
TOYODA, SHUJI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
NIKON CORP	N/A

APPL-NO: JP07059948

APPL-DATE: February 23, 1995

INT-CL (IPC): G02B021/00, G02B021/16, G02B021/18, G02B021/32, G02B021/36

ABSTRACT:

PURPOSE: To make it possible to efficiently introduce an exciting light for fluorescent observation and a laser beam for optical tweezers onto a sample without using a dichroic mirror having special characteristics by taking the exciting light and the laser beam via respectively discrete wavelength discriminating means into an observation optical system.

CONSTITUTION: The sample 1 is irradiated with the exciting light for vertical illuminating fluorescent observation via the first wavelength discriminating means, such as dichroic mirror DM1 arranged in the optical path of the observation optical system. Further, the sample 1 is irradiated with the laser beam for optical pincettes via the second wavelength discriminating means, such as dichroic mirror DM2 arranged in the optical path of the observation optical system. Namely, the exciting light for fluorescent observation is totally reflected by the first dichroic mirror DM1 and is introduced into the optical path for the observation optical system and the laser beam for optical pincettes is totally reflected by the second dichroic mirror DM2 and is introduced into the optical path for the observation optical system. The exciting light and the laser beam are introduced onto the sample via an objective lens.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-234110

(43)公開日 平成8年(1996)9月13日

(51)IntCl ⁹	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 2 B	21/00		G 0 2 B	21/00
	21/16			21/16
	21/18			21/18
	21/32			21/32
	21/36			21/36

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平7-59948

(22)出願日 平成7年(1995)2月23日

(71)出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72)発明者 大瀧 達朗

東京都品川区西大井1丁目6番3号 株式会社ニコン大井製作所内

(72)発明者 豊田 修治

東京都品川区西大井1丁目6番3号 株式会社ニコン大井製作所内

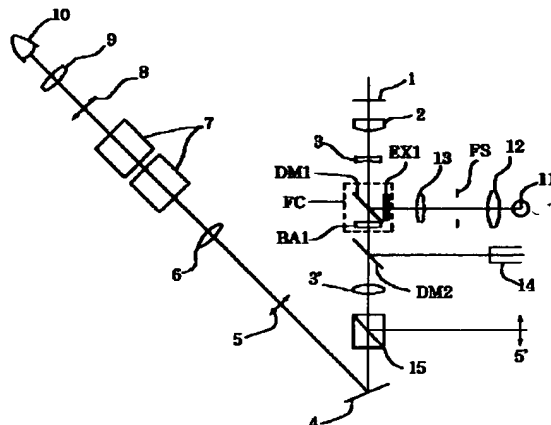
(74)代理人 弁理士 山口 孝雄

(54)【発明の名称】 落射蛍光顕微鏡

(57)【要約】

【目的】 特殊な特性を有するダイクロイックミラーを使用することなく、落射蛍光観察法と光ピンセット法とが可能な落射蛍光顕微鏡を提供すること。

【構成】 本発明においては、励起光照射光学系と、観察光学系と、光ピンセット手段とを備えた落射蛍光顕微鏡において、前記励起光照射光学系は、励起光を供給するための第1光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第1光源からの励起光を標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第1波長分別手段とを有し、前記光ピンセット手段は、レーザー光を供給するための第2光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第2光源からのレーザー光を前記標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第2波長分別手段とを有する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 落射蛍光観察用の励起光を標本に照射するための励起光照射光学系と、前記励起光に対する標本からの蛍光を対物レンズを介して結像させ前記標本の像を観察するための観察光学系と、前記標本の所定位置にレーザー光を集光して前記標本中の物体を前記所定位置で光学的に捕捉するための光ピンセット手段とを備えた落射蛍光顕微鏡において、

前記励起光照射光学系は、前記励起光を供給するための第1光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第1光源からの励起光を前記標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第1波長分別手段とを有し、

前記光ピンセット手段は、前記レーザー光を供給するための第2光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第2光源からのレーザー光を前記標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第2波長分別手段とを有することを特徴とする落射蛍光顕微鏡。

【請求項2】 前記観察光学系の光路中に配置され前記標本からの蛍光の一部を取り出すための光路分割手段と、該光路分割手段を介して取り出された蛍光が形成する前記標本の像を撮影するための撮影手段とを有する撮影光学系をさらに備えていることを特徴とする請求項1に記載の落射蛍光顕微鏡。

【請求項3】 前記第1波長分別手段および前記第2波長分別手段は、前記観察光学系の平行光束光路中に配置されていることを特徴とする請求項1または2に記載の落射蛍光顕微鏡。

【請求項4】 前記第1光源は、前記励起光を選択的に透過するための励起フィルタを有し、前記第1波長分別手段と前記励起フィルタとは、前記観察光学系の光路に対して一体的に挿脱自在に形成されていることを特徴とする請求項1乃至3のいずれか1項に記載の落射蛍光顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は落射蛍光顕微鏡に関し、特に落射蛍光照明装置と光ピンセットとを備えた顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】顕微鏡の観察方法として、水銀ランプ等の光源からの短い波長の励起光を標本上の観察視野領域に照明し、標本から発する長い波長の蛍光を観察する落射蛍光観察法がある。具体的には、対物レンズから拡大像に至る観察光学系の平行光束光路中に配置されたダイクロイックミラーによって水銀ランプ等からの短い波長の励起光を反射し、反射光を対物レンズを介して標本に照明する。また、最近では、細胞や染色体などの微細な対象物を光学的に捕捉する方法として、レーザー光を用

いた光ピンセット法が知られている。

【0003】以下、光ピンセット法の原理について説明する。光ピンセット法では、開口数の大きな対物レンズを介して強力なレーザー光を標本上に集光させる。このとき、標本中のたとえばビーズのような微小な物体とたとえば水のような周囲の溶液との間の屈折率の違いにより、ビーズと水との境界面においてレーザー光の屈折が起こる。このレーザー光の屈折によりビーズに作用するモーメント力を利用して、レーザー光の集光点の近くにビーズを光学的に捕捉する。捕捉可能な物体はビーズに限られることなく、細胞や染色体のような生物標本中の微細物体でも同様に捕捉可能である。顕微鏡では、光ピンセット法を利用した様々な応用が考えられる。

【0004】光ピンセットを組み込んだ従来の落射蛍光顕微鏡では、落射蛍光観察用の励起光を標本に照射するための励起光照射光学系の光路を利用して、レーザー光を標本に入射させている。すなわち、励起光を供給する光源と観察光学系の光路中に配置された第1ダイクロイックミラーとの間の光路中に別の第2ダイクロイックミラーを設け、この別の第2ダイクロイックミラーを介してレーザー光を励起光照射光学系の光路中に取り込んでいる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上述のような従来の落射蛍光顕微鏡では、観察光学系の光路中に配置された第1ダイクロイックミラーが、励起光のような短波長の光およびレーザー光のような長波長の光をともに反射するとともに、標本からの蛍光を透過するという特殊な特性を有する必要がある。たとえば、UV励起法を用いて蛍光観察を行う場合、340～390nmの光（励起光）および800nm以上の光（レーザー光）を反射し、且つ400～700nmの光（蛍光）を透過するという特殊な特性を第1ダイクロイックミラーに付与しなければならない。このため、第1ダイクロイックミラーの製造が困難となり、製造コストも高くなってしまう。

【0006】ところで、光ピンセットが組み込まれていない従来の落射蛍光顕微鏡では、励起光の波長を選択するための励起フィルタと第1ダイクロイックミラーとが交換可能なフィルタカセットを構成している。そして、励起法を変えて落射蛍光観察を行うような場合には、適当なフィルタカセットと交換することにより、第1ダイクロイックミラーと励起フィルタとを一体的に交換している。

【0007】しかしながら、上述のような従来の落射蛍光顕微鏡では、第2ダイクロイックミラーよりも励起光の光源側に励起フィルタを配置しなければならない。したがって、たとえばUV励起法からB励起法等の他の励起法に変えて落射蛍光観察を行うような場合、互いに離間して配置された第1ダイクロイックミラーと励起フィルタとを個別に交換しなければならない。その結果、顕

微鏡の構成が複雑になるばかりでなく、操作性も悪いという不都合があった。

【0008】本発明は、前述の課題に鑑みてなされたものであり、特殊な特性を有するダイクロックミラーを使用することなく、落射蛍光観察法と光ピンセット法とが可能な落射蛍光顕微鏡を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】前記課題を解決するために、本発明においては、落射蛍光観察用の励起光を標本に照射するための励起光照射光学系と、前記励起光に対する標本からの蛍光を対物レンズを介して結像させ前記標本の像を観察するための観察光学系と、前記標本の所定位置にレーザー光を集光して前記標本中の物体を前記所定位置で光学的に捕捉するための光ピンセット手段とを備えた落射蛍光顕微鏡において、前記励起光照射光学系は、前記励起光を供給するための第1光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第1光源からの励起光を前記標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第1波長分別手段とを有し、前記光ピンセット手段は、前記レーザー光を供給するための第2光源と、前記観察光学系の光路中に配置され、前記第2光源からのレーザー光を前記標本へ導くとともに前記標本からの蛍光を前記観察光学系の光路へ導く第2波長分別手段とを有することを特徴とする落射蛍光顕微鏡を提供する。

【0010】本発明の好ましい態様によれば、前記観察光学系の光路中に配置され前記標本からの蛍光の一部を取り出すための光路分割手段と、該光路分割手段を介して取り出された蛍光が形成する前記標本の像を撮影するための撮影手段とを有する撮影光学系をさらに備えている。

【0011】

【作用】本発明の落射蛍光顕微鏡では、観察光学系の光路中に配置されたダイクロックミラーのような第1波長分別手段を介して落射蛍光観察用の励起光を標本に照射するとともに、観察光学系の光路中に配置された別のダイクロックミラーのような第2波長分別手段を介して光ピンセット用のレーザー光を標本に照射する。具体的には、たとえば、蛍光観察用の励起光を第1ダイクロックミラーで全反射して観察光学系の光路中に導くとともに、光ピンセット用のレーザー光を第2ダイクロックミラーで全反射して観察光学系の光路中に導く。

【0012】こうして、特殊な特性を有するダイクロックミラーを使用することなく、蛍光観察用の励起光と光ピンセット用のレーザー光とを照射効率良く対物レンズを介して標本上に導くことができる。その結果、標本中の微細物体を光学的に捕捉するための必要なレーザー光の出力を最小限に抑えることができる。また、観察光学系の光路中にハーフプリズムのような光路分割手段を配置し、ハーフプリズムを介して取り出した蛍光が形成

する標本の像をビデオカメラ等の撮影手段により撮影することもできる。

【0013】

【実施例】以下、本発明の実施例を、添付図面に基いて説明する。図1は、本発明の実施例にかかる落射蛍光顕微鏡の構成を概略的に示す図である。図示の装置は倒立型の顕微鏡であり、観察すべき標本1の図中下方には対物レンズ2が配置されている。そして、この対物レンズ2の下方から落射蛍光照明が施されるようになっている。落射蛍光用の光源11からの光束は、コレクタレンズ12によって集光されて一旦結像した後、リレーレンズ13および励起フィルタEX1を介してダイクロックミラーDM1に入射する。

【0014】なお、コレクタレンズ12とリレーレンズ13との間の結像位置には、視野絞りFSが配置されている。また、ダイクロックミラーDM1は、顕微鏡の観察光学系のリレーレンズ系(3、3')の平行光束光路中に配置されている。ダイクロックミラーDM1により図中上方に反射された落射蛍光用の光束は、対物レンズ2を介して標本1の観察視野領域を照明する。標本1と視野絞りFS1とは光学的に共役の位置にあり、観察視野領域は視野絞りFSの開口部の形状および大きさに依存して規定される。

【0015】なお、本実施例ではUV励起法を用いており、励起フィルタEX1は波長が340~390nmの光すなわち励起光を透過する特性を有する。一方、ダイクロックミラーDM1は波長が400nm以下の光を反射し、400nmを超える光を透過する特性を有する。このように、光源11、コレクタレンズ12、視野絞りFS、リレーレンズ13、励起フィルタEX1、ダイクロックミラーDM1、および対物レンズ2は、落射蛍光顕微鏡の励起光照射光学系を構成している。

【0016】こうして、光源11からの励起光が照射された標本で発生した蛍光のうち波長が400nmを超える蛍光は、対物レンズ2によって集光された後、リレーレンズ系(3、3')中のダイクロックミラーDM1を透過する。さらに、420nm以上の波長を有する光を透過するバリアフィルタBA1を介して、波長が400未満の蛍光が除去される。このように、観察に有害な光が除去された後、標本1からの蛍光はハーフプリズム15を介してミラー4に入射する。そして、ミラー4において図中左斜め上方に反射された光は、拡大像5を形成する。

【0017】拡大像5からの光は、リレーレンズ系6およびプリズム7を介して再結像し、像8が形成される。像8は、接眼レンズ9を介して観察者の肉眼10によって観察される。このように、対物レンズ2、リレーレンズ系(3、3')、ミラー4、リレーレンズ系6、プリズム7および接眼レンズ9は、顕微鏡の観察光学系を構成している。なお、本実施例におけるUV励起法のため

のダイクロイックミラーDM1、励起フィルタEX1およびバリアフィルタBA1の分光透過率特性を、図2に示す。

【0018】図1中破線で示すように、ダイクロイックミラーDM1、励起フィルタEX1およびバリアフィルタBA1は、観察光学系の光路に対して一体的に挿脱自在な、すなわち交換可能なフィルタカセットFCを形成している。そして、このフィルタカセットFCは、たとえばB励起法、V励起法、G励起法等の他の励起法用のフィルタカセットと適宜交換されるようになっている。したがって、観察光学系の光路に対して一体的に挿脱自在なフィルタカセットを交換するだけで、所望の励起法を操作性良く選択することができる。

【0019】たとえば、B励起法を用いる場合、ダイクロイックミラーDM1'、励起フィルタEX1'およびバリアフィルタBA1'からなるフィルタカセットFC'と交換する。ここで、ダイクロイックミラーDM1'は、波長が510nm以下の光を反射し、510nmを超える光を透過する特性を有する。また、励起フィルタEX1'は、波長が410~460nmの励起光を透過する特性を有する。さらに、バリアフィルタBA1'は、520nm以上の波長を有する光を透過する特性を有する。なお、B励起法用のフィルタカセットFC'を構成するダイクロイックミラーDM1'、励起フィルタEX1'およびバリアフィルタBA1'の分光透過率特性を、図3に示す。

【0020】図1の落射蛍光顕微鏡はさらに、標本1中の微細物体を光学的に捕捉するための光ピンセット手段を備えている。光ピンセット手段は、たとえば波長が1064nmのレーザー光を発するNdYAGレーザー光源14を有する。光源14からのレーザー光は、観察光学系のリレーレンズ系(3、3')の平行光束光路中に配置されたダイクロイックミラーDM2に入射する。ダイクロイックミラーDM2は、可視光を透過し且つ赤外光を反射するように、波長が800nm以下の光を透過し且つ波長が800nmを超える光を反射する特性を有する。このようなダイクロイックミラーDM2の分光透過率特性を、図4に示す。

【0021】ダイクロイックミラーDM2により図中上方に反射されたレーザー光は、バリアフィルタBA1、ダイクロイックミラーDM1を透過し、対物レンズ2に入射する。対物レンズ2に入射したレーザー光は集光され、標本1上の所定位置にレーザースポットを形成する。こうして、光ピンセット法によって、レーザー集光点の近傍において、標本1中の微小物体を光学的に捕捉することができる。このように、レーザー光源14、ダイクロイックミラーDM2および対物レンズ2は、光ピンセット手段を構成している。

【0022】また、本実施例では、観察光学系の光路中にハーフプリズム15のような光路分割手段が設けられ

ている。したがって、ハーフプリズム15を介して標本1からの蛍光の一部が観察光学系から取り出され、取り出された蛍光が標本1の拡大像5'を形成する。こうして、いわゆるサイドポートに形成された標本1の拡大像5'を、図示を省略したビデオカメラ等の撮影手段により撮影することができる。

【0023】なお、上述の実施例では、倒立型の顕微鏡を例にとって本発明を説明しているが、一般の正立型の顕微鏡にも本発明を適用することができる。また、上述の実施例では、蛍光観察用のダイクロイックミラーDM1が光ピンセット用のダイクロイックミラーDM2よりも標本側に配置されているが、これらの2つのダイクロイックミラーの配置は逆であってもよい。さらに、上述の実施例では、落射蛍光法としてUV励起法にしたがう構成を示したが、他の適当な励起法を用いることもできる。

【0024】また、上述の実施例では、励起光を反射し且つ蛍光を透過するダイクロイックミラーやレーザー光を反射し且つ蛍光を透過するダイクロイックミラーを用いた例を示している。しかしながら、励起光を透過し且つ蛍光を反射するダイクロイックミラーやレーザー光を透過し且つ蛍光を反射するダイクロイックミラーを用いてもよい。また、ダイクロイックミラーに代えて、ダイクロイックプリズムや他の適当な波長分別手段を使用することもできる。

【0025】

【効果】以上説明したように、本発明によれば、蛍光観察用の励起光および光ピンセット用のレーザー光をそれぞれ個別のダイクロイックミラーのような波長分別手段を介して観察光学系の光路中に取り込んでいる。したがって、特殊な特性を有するダイクロイックミラーを使用することなく、励起光とレーザー光とを照射効率良く標本上に導くことができる。その結果、レーザー光の出力を最小限に抑えることができる。また、本発明によれば、蛍光観察用の励起フィルタとダイクロイックミラーとが交換可能なフィルタカセットを構成し、このフィルタカセットを他の励起法用のフィルタカセットと交換するだけで、所望の励起法による蛍光観察を操作性良く行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例にかかる落射蛍光顕微鏡の構成を概略的に示す図である。

【図2】本実施例におけるUV励起法のためのダイクロイックミラーDM1、励起フィルタEX1およびバリアフィルタBA1の分光透過率特性を示す図である。

【図3】B励起法のためのダイクロイックミラーDM1'、励起フィルタEX1'およびバリアフィルタBA1'の分光透過率特性を示す図である。

【図4】光ピンセット用のダイクロイックミラーDM2の分光透過率特性を示す図である。

7

8

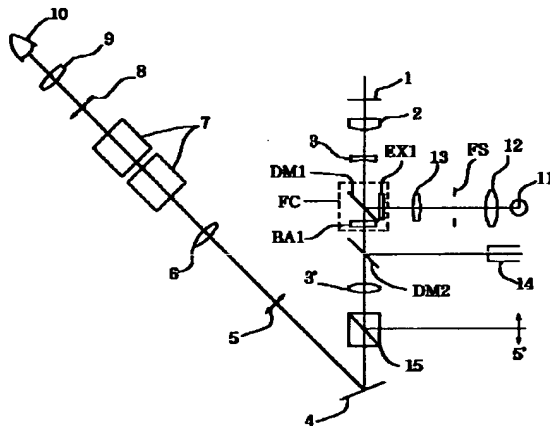
【符号の説明】

- 1 標本
2 対物レンズ
3、3' リレーレンズ系
4 ミラー
5、8 像面
7 プリズム
9 接眼レンズ
10 肉眼
11 励起光光源

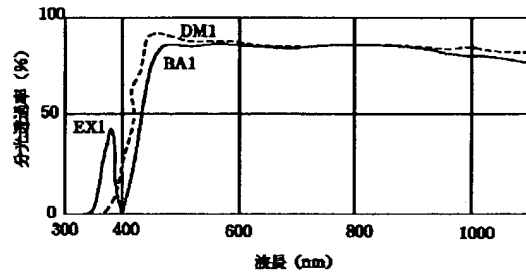
- 12 コレクタレンズ
14 レーザー光源
15 ハーフプリズム
EX1 励起フィルタ
BA1 バリアフィルタ
DM1 ダイクロイックミラー
DM2 ダイクロイックミラー
FC フィルタカセット
FS 視野絞り

10

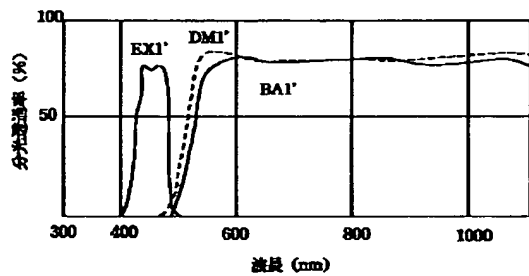
【図1】



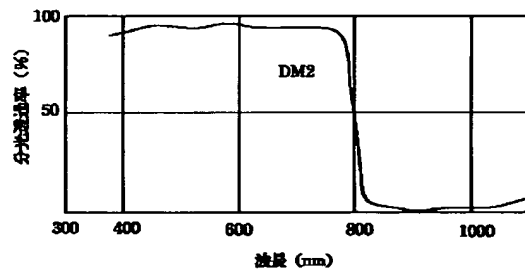
【図2】



【図3】



【図4】



* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] Especially this invention relates to the microscope equipped with the **** fluorescence lighting system and the photo pincette about a **** fluorescence microscope.

[0002]

[Description of the Prior Art] As the observation method of a microscope, the excitation light of the short wavelength from the light sources, such as a mercury lamp, is illuminated to the observation visual field field on a sample, and there is a **** fluorescence observational method which observes the fluorescence of long wave length emitted from a sample. With the dichroic mirror specifically arranged in the parallel flux of light optical path of the observation optical system from an objective lens to an expansion image, the excitation light of the short wavelength from a mercury lamp etc. is reflected, and the reflected light is illuminated in a sample through an objective lens. Moreover, the photo pincette method using the laser beam as a method of catching an object with detailed cell, chromosome, etc. optically is learned for recently.

[0003] Hereafter, the principle of a photo pincette method is explained. A powerful laser beam is made to condense on a sample through an objective lens with big numerical aperture by the photo pincette method. At this time, refraction of a laser beam takes place in the interface of a bead and water by the difference in the refractive index between a minute body like [in a sample (for example, a bead)], and the solution of the circumference like water. A bead is optically caught near the condensing point of a laser beam using the moment force of acting on a bead by refraction of this laser beam. The body which can be caught can catch similarly the detailed body in an organism sample like a cell or a chromosome, without being restricted to a bead. Under a microscope, various application using the photo pincette method can be considered.

[0004] In the conventional **** fluorescence microscope incorporating the photo pincette, incidence of the laser beam is carried out to a sample using the optical path of the excitation light irradiation optical system for irradiating the excitation light for **** fluorescence observation at a sample. That is, 2nd another dichroic mirror was formed into the optical path between the light source which supplies excitation light, and the 1st dichroic mirror arranged in the optical path of observation optical system, and the laser beam is incorporated in the optical path of excitation light irradiation optical system through this 2nd another dichroic mirror.

[0005]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] In the above conventional **** fluorescence microscopes, while the 1st dichroic mirror arranged in the optical path of observation optical system reflects both the light of short wavelength like excitation light, and the light of long wavelength like a laser beam, it is necessary to have the special property of penetrating the fluorescence from a sample. For example, when performing fluorescence observation using the UV exciting method, 340-390nm light (excitation light) and light (laser beam) 800nm or more are reflected, and the special property of penetrating 400-700nm light (fluorescence) must be given to the 1st dichroic mirror. For this reason, manufacture of the 1st dichroic mirror will become difficult and a manufacturing cost will also become high.

[0006] By the way, the filter cassette for which the excitation filter and the 1st dichroic mirror for choosing the wavelength of excitation light are exchangeable consists of conventional **** fluorescence microscopes into which the photo pincette is not built. And in changing the exciting method and performing **** fluorescence observation, it is exchanging the 1st dichroic mirror and the excitation filter in one by exchanging for a suitable filter cassette.

[0007] However, in the above conventional **** fluorescence microscopes, you have to arrange an excitation filter to the light source side of excitation light rather than the 2nd dichroic mirror. When following, for example, changing into other exciting methods, such as the UV exciting method to the B exciting method, and performing **** fluorescence observation, you have to exchange individually the 1st dichroic mirror and excitation filter which estranged mutually and have been arranged. Consequently, the composition of a microscope not only becomes complicated, but there was un-arranging [that operability was also bad].

[0008] this invention is made in view of the above-mentioned technical problem, and it aims at offering the **** fluorescence microscope in which a **** fluorescence observational method and a photo pincette method are possible, without using the dichroic mirror which has a special property.

[0009]

[Means for Solving the Problem] In order to solve the aforementioned technical problem, it sets to this invention. The excitation light irradiation optical system for irradiating the excitation light for **** fluorescence observation at a sample, The observation optical system for carrying out image formation of the fluorescence from the sample to the aforementioned excitation light through an objective lens, and observing the image of the aforementioned sample, In the **** fluorescence microscope equipped with the photo pincette means for condensing a laser beam in the predetermined position of the aforementioned sample, and catching the body in the aforementioned sample optically in the aforementioned predetermined position The 1st light source for the aforementioned excitation light irradiation optical system supplying the aforementioned excitation light, It has a 1st-wave judgment means to lead the fluorescence from the aforementioned sample to the optical path of the aforementioned observation optical system while being arranged in the optical path of the aforementioned observation optical system and leading the excitation light from the 1st light source of the above to the aforementioned sample. The 2nd light source for the aforementioned photo pincette means supplying the aforementioned laser beam, It is arranged in the optical path of the aforementioned observation optical system, and while leading the laser beam from the 2nd light source of the above to the aforementioned sample, the **** fluorescence microscope characterized by having a 2nd-wave judgment means to lead the fluorescence from the aforementioned sample to the optical path of the aforementioned observation optical system is offered.

[0010] According to the desirable mode of this invention, it has further the photography optical system which has a photography means for photoing the image of the aforementioned sample which the fluorescence taken out through the optical-path division means for being arranged in the optical path of the aforementioned observation optical system, and taking out a part of fluorescence from the aforementioned sample and this optical-path division means forms.

[0011]

[Function] In the **** fluorescence microscope of this invention, while irradiating the excitation light for **** fluorescence observation at a sample through a 1st-wave judgment means like the dichroic mirror arranged in the optical path of observation optical system, the laser beam for photo pincettes is irradiated at a sample through a 2nd-wave judgment means like another dichroic mirror arranged in the optical path of observation optical system. While carrying out total reflection of the excitation light for fluorescence observation with the 1st dichroic mirror and specifically leading into the optical path of observation optical system, total reflection of the laser beam for photo pincettes is carried out with the 2nd dichroic mirror, and it leads into the optical path of observation optical system.

[0012] in this way -- without it uses the dichroic mirror which has a special property -- the excitation light for fluorescence observation, and the laser beam for photo pincettes -- irradiation -- it can lead on a sample through an objective lens efficiently Consequently, the output of the required laser beam for catching the detailed body in a sample optically can be suppressed to the minimum. Moreover, an optical-path division means like half prism can be arranged in the optical path of observation optical system, and the image of the sample which the fluorescence taken out through half prism forms can also be photoed by photography meanses, such as a video camera.

[0013]

[Example] Hereafter, the example of this invention is explained based on an accompanying drawing. Drawing 1 is drawing showing roughly the composition of the **** fluorescence microscope concerning the example of this invention. The equipment of illustration is a done-a handstand type microscope, and the objective lens 2 is

arranged at the lower part in drawing of the sample 1 which should be observed. And **** fluorescence lighting is performed from the lower part of this objective lens 2. Once being condensed with the collector lens 12 and carrying out image formation of the flux of light from the light source 11 for **** fluorescence, incidence of it is carried out to a dichroic mirror DM 1 through a relay lens 13 and an excitation filter EX1. [0014] In addition, field-diaphragm FS is arranged in the image formation position between the collector lens 12 and a relay lens 13. Moreover, the dichroic mirror DM 1 is arranged in the parallel flux of light optical path of the relay lens system (3 3') of the observation optical system of a microscope. The flux of light for **** fluorescence reflected in the upper part in drawing by the dichroic mirror DM 1 illuminates the observation visual field field of a sample 1 through an objective lens 2. A sample 1 and field-diaphragm FS1 are in a conjugate position optically, and an observation visual field field is specified depending on the configuration and size of opening of field-diaphragm FS.

[0015] In addition, in this example, the UV exciting method is used and an excitation filter EX1 has the property penetrating the light, i.e., the excitation light, whose wavelength is 340-390nm. On the other hand, wavelength reflects light 400nm or less, and a dichroic mirror DM 1 has the property which penetrates the light exceeding 400nm. Thus, the light source 11, the collector lens 12, field-diaphragm FS, the relay lens 13, the excitation filter EX1, the dichroic mirror DM 1, and the objective lens 2 constitute the excitation light irradiation optical system of a **** fluorescence microscope.

[0016] In this way, the fluorescence to which wavelength exceeds 400nm among the fluorescence generated by the sample by which the excitation light from the light source 11 was irradiated penetrates the dichroic mirror DM 1 in a relay lens system (3 3'), after being condensed with an objective lens 2. Furthermore, less than 400 fluorescence is removed for wavelength through the barrier filter bus available 1 which penetrates the light which has the wavelength of 420nm or more. Thus, after a light detrimental to observation is removed, incidence of the fluorescence from a sample 1 is carried out to a mirror 4 through the half prism 15. And the light reflected in the mirror 4 by the method of the diagonal left in drawing forms the expansion image 5.

[0017] Re-image formation of the light from the expansion image 5 is carried out through the relay lens system 6 and prism 7, and an image 8 is formed. an image 8 -- an ocular 9 -- minding -- an observer's naked eye -- it is observed by 10 Thus, an objective lens 2, a relay lens system (3 3'), a mirror 4, the relay lens system 6, prism 7, and the ocular 9 constitute the observation optical system of a microscope. In addition, the dichroic mirror DM 1 for the UV exciting method in this example, an excitation filter EX1, and the spectral transmittance property of the barrier filter bus available 1 are shown in drawing 2 .

[0018] As a drawing 1 destructive line shows, the dichroic mirror DM 1, the excitation filter EX1, and the barrier filter bus available 1 form the exchangeable filter cassette FC to the optical path of observation optical system that it can insert freely in one. And this filter cassette FC is suitably exchanged for the filter cassette for [such as for example, the B exciting method, the V exciting method, and the G exciting method,] other exciting methods. Therefore, the method of exciting desired can be chosen with sufficient operability only by exchanging the filter cassette it can insert [cassette] freely in one to the optical path of observation optical system.

[0019] for example, -- B -- excitation -- a method -- using -- a case -- a dichroic mirror -- DM -- one -- ' -- an excitation filter -- EX -- one -- ' -- and -- the barrier -- a filter -- bus available -- one -- ' -- from -- becoming -- a filter -- a cassette -- FC -- ' -- exchanging . Here, wavelength reflects light 510nm or less, and dichroic mirror DM1' has the property which penetrates the light exceeding 510nm. Moreover, excitation-filter EX1' has the property which penetrates the excitation light whose wavelength is 410-460nm. Furthermore, barrier filter bus-available1' has the property which penetrates the light which has the wavelength of 520nm or more. in addition -- B -- excitation -- a method -- ** -- a filter -- a cassette -- FC -- ' -- constituting -- a dichroic mirror -- DM -- one -- ' -- an excitation filter -- EX -- one -- ' -- and -- the barrier -- a filter -- bus available -- one -- ' -- spectral transmittance -- a property -- drawing 3 -- being shown .

[0020] The **** fluorescence microscope of drawing 1 is further equipped with the photo pincette means for catching the detailed body in a sample 1 optically. A photo pincette means has the NdYAG laser light source 14 which emits the laser beam whose wavelength is 1064nm. Incidence of the laser beam from the light source 14 is carried out to the dichroic mirror DM 2 arranged in the parallel flux of light optical path of the relay lens system (3 3') of observation optical system. A dichroic mirror DM 2 has the property of reflecting the light in which wavelength penetrates light 800nm or less, and wavelength exceeds 800nm so that the light may be

penetrated and infrared light may be reflected. Such a spectral transmittance property of a dichroic mirror DM 2 is shown in drawing 4 .

[0021] The laser beam reflected in the upper part in drawing by the dichroic mirror DM 2 penetrates the barrier filter bus available 1 and a dichroic mirror DM 1, and they carry out incidence to an objective lens 2. It is condensed and the laser beam which carried out incidence to the objective lens 2 forms a laser spot in the predetermined position on a sample 1. In this way, in the laser condensing neighborhood of a point, the minute body in a sample 1 can be optically caught by the photo pincette method. Thus, the laser light source 14, the dichroic mirror DM 2, and the objective lens 2 constitute the photo pincette means.

[0022] Moreover, in this example, an optical-path division means like the half prism 15 is established into the optical path of observation optical system. Therefore, a part of fluorescence from a sample 1 is taken out from observation optical system through the half prism 15, and the taken-out fluorescence forms expansion image 5' of a sample 1. In this way, expansion image 5' of the sample 1 formed in the so-called side port can be photoed by photography meanses, such as a video camera which omitted illustration.

[0023] In addition, in the above-mentioned example, although this invention is explained taking the case of a done-a handstand type microscope, this invention is applicable also to a common stood type microscope. Moreover, although the dichroic mirror DM 1 for fluorescence observation is arranged from the dichroic mirror DM 2 for photo pincettes in the above-mentioned example at the sample side, arrangement of these two dichroic mirrors may be reverse. Furthermore, although the above-mentioned example showed the composition which follows the UV exciting method as a **** fluorescence method, other suitable exciting methods can also be used.

[0024] Moreover, the above-mentioned example shows the example using the dichroic mirror which reflects the dichroic mirror and laser beam which reflect excitation light and penetrate fluorescence, and penetrates fluorescence. However, you may use the dichroic mirror which penetrates the dichroic mirror and laser beam which penetrate excitation light and reflect fluorescence, and reflects fluorescence. Moreover, it can replace with a dichroic mirror and a dichroic prism and other suitable wavelength judgment meanses can also be used.

[0025]

[Effect] As explained above, according to this invention, the excitation light for fluorescence observation and the laser beam for photo pincettes are incorporated in the optical path of observation optical system through a wavelength judgment means like a respectively individual dichroic mirror. therefore -- without it uses the dichroic mirror which has a special property -- excitation light and a laser beam -- irradiation -- it can lead on a sample efficiently Consequently, the output of a laser beam can be suppressed to the minimum. Moreover, according to this invention, the filter cassette for which the excitation filter and dichroic mirror for fluorescence observation are exchangeable can be constituted, and fluorescence observation by the method of exciting desired can be performed with sufficient operability only by exchanging this filter cassette for the filter cassette for other exciting methods.

[Translation done.]

